

Quercetin과 (+)-Catechin의 카드뮴(II)에 대한 착물반응

이정호 · 신선우* · 백승화*^{#,}

송호대학 자연건강관리과, *원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과
(Received June 29, 2009; Revised August 7, 2009; Accepted August 14, 2009)

Complexation Studies for Cadmium (II) with Quercetin and (+)-Catechin

Jeong Ho Lee, Sun Woo Shin* and Seung Hwa Baek*^{#,}

Department of Natural Health Management, Songho College, Hoengseong 225-801, Korea

*Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

Abstract — The interaction of cadmium (II) ion with quercetin and (+)-catechin was investigated in aqueous solution at various pH. The flavonoid/cadmium stoichiometries for cadmium (II) binding to quercetin and (+)-catechin have been determined by UV-vis spectroscopy. 1 : 1 Cd (II)-Flavonoid complex had a maximum absorbance and showed the bathochromic shift of the long-wavelength band of the UV-vis spectra in the alkaline pH, that occurs upon complexation, due to a ligand-to-metal charge transfer. These results suggest that Cd (II)-flavonoid complex has the optimal condition of chelation in 0.2 M NH₃ - 0.2 M NH₄Cl (pH 8.0) solution.

Keywords □ quercetin, (+)-catechin, bathochromic shift, Cd (II)-flavonoid complex, ligand-to-metal charge transfer, UV-vis spectroscopy

최근에 카드뮴과 같은 중금속 오염에 대해, 자연계에 존재하는 phytochemical compound를 이용한 중금속 흡착 연구가 활발히 진행되고 있는 데, 그 중에서 녹차를 비롯한 다엽에 다량으로 polyphenol계 성분 중의 하나인 카테킨(catechin)이 착물 형성 혹은 화학흡착에 의해 침전되어, 카드뮴을 그대로 배설시킴으로서 중금속 독성으로부터 보호할 수 있다.^{1,2)} 최근에 이 등³⁾은 어성초의 구성성분 중에 protocatechuic acid를 이용하여, 현재 중금속 독성에 대한 치료제로 사용되고 있는 50.07 μM EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) 보다는 높은 최적농도에서 카드뮴(II)-protocatechuic acid의 1 : 1 착물을 형성하며, 64.22 μM protocatechuic acid의 최적농도에서 Cd(H₂PA)⁺ 착물이 형성된다고 보고하였다. Souza 등은 알루미늄(III)-케르세틴 착물이나 아연(II)-케르세틴 착물의 항산화 효과가 케르세틴의 항산화 효과보다 증가한다고 보고하였으며,⁴⁾ 케르세틴은 가능한 세 가지의 착물 결합자리에서 경쟁반응할 수 있는 화합물로서 3-hydroxy-carbonyl group, 5-hydroxy-carbonyl group와 3'4'-dihydroxyl

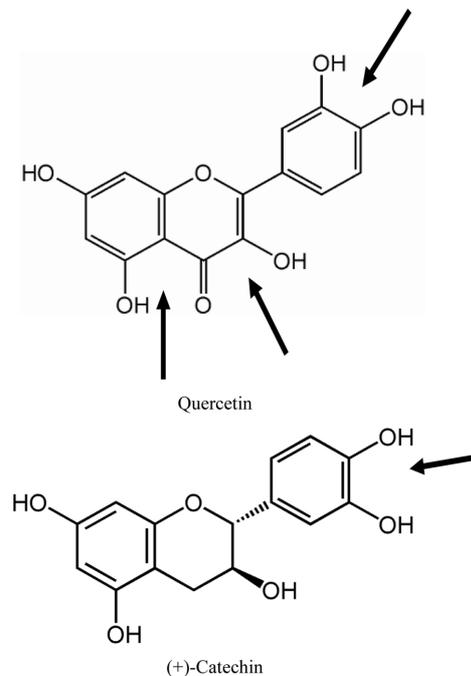


Fig. 1 – Representation and atomic numbering adopted for quercetin and (+)-catechin. The arrows indicate the potential chelating sites.

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 063-850-6225 (팩스) 063-841-4893
(E-mail) shbaek@wonkwang.ac.kr

(catechol) 그룹들을 갖고 있다(Fig. 1). 케르세틴의 세 가지 관능기의 착물 형성능력은 3'-dihydroxyl group > 3-hydroxy-carbonyl group > 5-hydroxy-carbonyl group의 순서로 이루어졌으며, 납(II)은 착물의 형성능력이 가장 높은 케르세틴의 catechol group에서 납(II)-케르세틴 착물은 1:1로 형성된다고 보고하였다.⁵⁾ Cornard 등⁶⁾은 알루미늄(III)의 경우는 납(II)과는 다르게, 순수한 메탄올에서 알루미늄(III)은 케르세틴의 3-hydroxy-carbonyl group에서 주 생성물인 안정한 1:2의 dimeric complex(안정도 상수 = 2×10^{12})가 형성되며, 산성 메탄올 수용액은 케르세틴의 5-hydroxy-carbonyl group에서 알루미늄 착물(1:1)과 sodium methanoate를 포함한 염기성 메탄올 용액은 케르세틴의 3'-dihydroxyl group에서 알루미늄 착물(1:2)의 화학량론적 관계로 착물이 형성된다고 보고하였다. Le Nest 등^{7,8)}은 Zn^{2+} , Cu^{2+} 이온이 케르세틴, 카테킨과 루틴의 카테콜그룹과 안정한 금속착물을 형성한다고 보고하였다. 최근에 카테킨은 차아부식의 원인균인 *Streptococcus mutans*에 항균효과가 있다고 보고한바 있으며,⁹⁾ 브로모벤젠으로 간독성을 유발시킨 흰쥐 간장중에 존재하는 약물대사에 관여하는 효소들의 활성에 미치는 영향을 보고하였다.¹⁰⁾ 또한 녹차 추출물에 함유된 카테킨이 누드 마우스 피부에서 UVB에 의해서 손상된 피부조직에 미치는 영향 및 손상된 피부세포 증식과 세포사멸에 미치는 영향을 보고하였다.¹¹⁾ 녹차, 홍차, 우롱차 및 광범위하게 이용되는 티백에 존재하는 카테킨류가 oxygen radical absorbing capacity 분석법을 이용하여 항산화능을 비교하였다.¹²⁾ 이러한 연구결과에 의하면, 카드뮴(II)은 케르세틴과 (+)-카테킨의 카테콜 그룹에서 두 자리 리간드로서 착물형성이 이루어지리라 예측된다.^{5,6,13)}

이에 본 연구는 정상세포에서 카드뮴 독성을 경감시킬수 있는 케르세틴과 (+)-카테킨의 최적농도와 여러 가지의 pH 수용액의 조건하에서, 카드뮴(II)-프라보노이드 착물의 형성능력에 대한 화학량론적 관계를 확립하고자, 카드뮴(II)-프라보노이드 착물의 최적조건에 대한 농도를 측정하였기에 보고하는 바이다.

실험방법

시약 및 기기

자외선-가시광선 분광 광도계는 Hewlett Packard사의 model HP 8453A를 사용하여, 시료를 일정한 농도로 메탄올에 녹인후 190~700 nm까지 scanning하여 스펙트럼을 얻었다. 적외선 분광 광도계는 Jasco사의 model FT/IR 5300을 사용하였다. 카드뮴 착물의 분광 화학적 측정은 케르세틴, (+)-카테킨, 염화 카드뮴, 초산 나트륨, 염화 암모늄, 암모니아, 수산화 나트륨, 초산, 염산 등의 화합물을 Aldrich회사에서 구입하여 사용하였다.

시료의 조제 및 처리

카드뮴과 시료의 착물을 측정하기 위한 pH 용액은 조제하여

사용하였으며,^{14,15)} 조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였다가 사용직전에 10^{-2} ~ 10^{-5} mg/ml의 농도로 희석하여 실험하였으며, 카드뮴($CdCl_2$)은 사용 당일에 증류수로 녹여 1,000 μ M의 농도를 stock solution으로 하여 필요한 농도를 희석하여 사용하였다.

카드뮴 용액

염화 카드뮴 1.833 mg을 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액(1 ml)에 녹여 1.0×10^{-2} M 염화 카드뮴 용액이 되도록 조제한 후, 다시 1.0×10^{-2} M 염화 카드뮴 용액(1 ml)에 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액(9 ml)를 첨가하여, 1.0×10^{-3} M 염화 카드뮴 용액을 희석하여 염화 카드뮴 용액을 농도별로 조제하였다. 위의 방법과 같이 1.0×10^{-2} M 암모니아(pH 10.6) 용액, 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액, 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 용액, 1.0×10^{-4} M 초산(pH 4.5) 용액, 1.0×10^{-4} M 염산(pH 4.0) 용액을 희석하여 염화 카드뮴 용액을 농도별로 조제하였다.

시료용액

시료를 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액 1 ml에 녹여 1.0×10^{-2} M 시료가 되도록 조제한 후, 다시 1.0×10^{-4} M 시료농도가 되도록 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액으로 희석 조제하여 용액의 pH를 유지시켰다. 위와 같은 방법으로 1.0×10^{-2} M 암모니아(pH 10.6) 용액, 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액, 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 용액, 1.0×10^{-4} M 초산(pH 4.5) 용액, 1.0×10^{-4} M 염산(pH 4.0) 용액으로 1.0×10^{-4} M 시료용액을 조제하였다.

카드뮴 착물의 분광 화학적 측정

모든 스펙트라 측정은 실험용액의 액성 즉, pH 농도를 유지시켰으며, 온도는 17~20°C에서 실시하였다. 흡수 스펙트라의 측정범위는 190~700 nm 범위에서 측정하였으며, 흡수 분광학적 방법에 의한 복합체의 결합비의 결정은 몰비법을 사용하였다.¹⁶⁾ 몰비법은 한 성분의 농도를 고정하고 다른 한 성분의 농도를 연속적으로 변화시켜 흡광도를 측정하는 것 즉, $[M]/[L]$ 을 바꾸면서 착물의 최대흡수 파장에서 흡광도를 측정하여, 흡광도 변화와 반응물의 몰비를 도출하였다.¹⁷⁾

실험결과 및 고찰

Cd(II)-Quercetin의 최적농도

1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액에서의 스펙트리는 307 nm 이후에서 몰 비율이 증가함에 따라 흡광도는 흡광증가 효과로 나타났으며, 352 nm 이후에서와 421 nm 이후에서는 몰

비율이 증가할수록 흡광감소 효과의 현상으로 측정되었다. 흡광도에서 나타난 306 nm, 350 nm, 370 nm, 420 nm의 4가지의 등흡광점이 관찰된 것은 이들 반응과정에서 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각되며, 326 nm에서 카드뮴(II)과 케르세틴이 1:1로 착물이 형성되었으며, 카드뮴 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, 이때의 최적농도가 54.98 μM 케르세틴의 농도에서 착물이 형성되는 것을 알 수 있었으며, $\lambda_1 = 485 \text{ nm}$, $\lambda_2 = 371 \text{ nm}$, $\lambda_3 = 317 \text{ nm}$ 에서 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다.^{3,5,6} $1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ 암모니아(pH 10.6) 용액에서는 306 nm, 350 nm, 371 nm, 420 nm의 4가지의 등흡광점이 관찰된 것은 이들 반응과정에서 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각되며,^{5,6} $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액에서의 등흡광점과 유사한 현상을 관찰할 수가 있었다. $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액보다 높은 328 nm에서 카드뮴(II)과 케르세틴이 1:1로 착물되는 것을 알 수 있었고, 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ NaOH(pH 8.0) 용액에서의 최적농도보다 낮은 54.85 μM 케르세틴의 농도에서 카드뮴 착

물이 형성되는 것을 알 수 있었다. $1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ 암모니아(pH 10.6) 용액은 307 nm와 372 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광도는 흡광증가 효과로 나타났고, 351 nm, 421 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광감소 효과로 관찰되었다. $\lambda_1 = 485 \text{ nm}$, $\lambda_2 = 372 \text{ nm}$, $\lambda_3 = 318 \text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다.^{3,5,6,17} 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액에서도 몰 비율이 증가함에 따라 흡광도가 흡광감소 효과로 나타났으며, 흡광도가 307 nm, 350 nm, 372 nm, 423 nm의 4가지의 등흡광점은 약 1~3 nm 파장의 장파색 효과가 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각된다.^{5,6} 알칼리 용액처럼 흡광도가 328 nm에서 카드뮴(II)과 케르세틴이 착물을 형성하였으며, 카드뮴 착물의 몰 비율이 1.0에서 1:1 착물이 형성됨을 알 수 있었다. 카드뮴 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, 케르세틴과 카드뮴(II)이 1:1로 착물되는 최적농도는 알칼리 용액에서 가장 낮은 최적농도로 54.72 μM 케르세틴임을 알 수 있었다. 카드뮴 착물은 $\lambda_1 = 485 \text{ nm}$, $\lambda_2 = 373 \text{ nm}$, $\lambda_3 = 313 \text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로

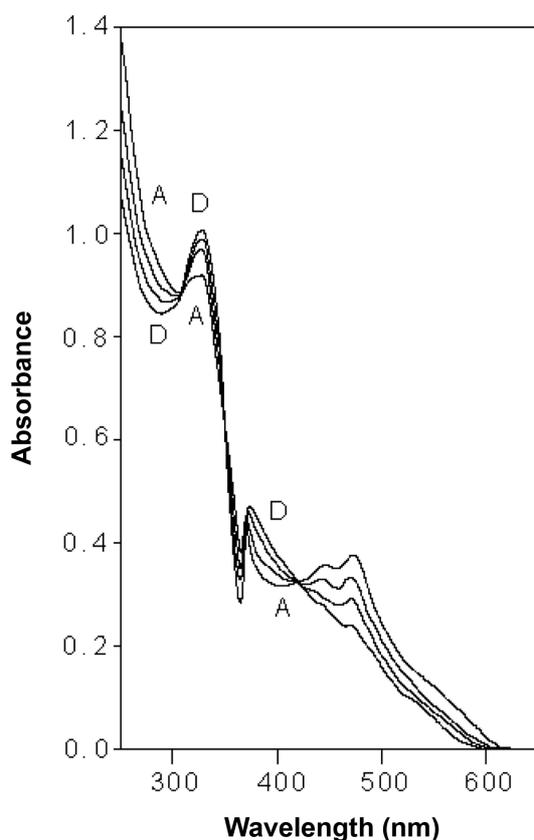


Fig. 2 – Electronic absorption spectra of 50 μM quercetin. a) 0.2 M NH_3 - 0.2 M NH_4Cl (pH 8.0) in the presence of various concentrations of cadmium (II) at $\lambda = 328 \text{ nm}$. b) $R = [\text{cadmium}]/[\text{quercetin}]$; $R = 0.0$ (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

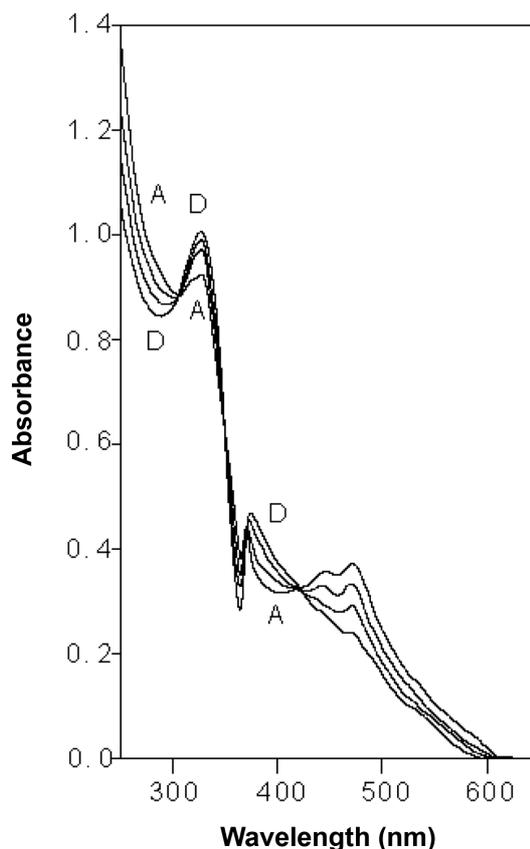


Fig. 3 – Electronic absorption spectra of 50 μM quercetin. a) 0.2 M NaOAc - 0.2 M CH_3COOH (pH 4.0) in the presence of various concentrations of cadmium (II) at $\lambda = 328 \text{ nm}$. b) $R = [\text{cadmium}]/[\text{quercetin}]$; $R = 0.0$ (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

사료된다. 308 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광도는 흡광 증가 효과가 나타났으며, 351 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광감소 효과로 관찰되었다(Fig. 2).^{3,5,6,18)}

0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 산성 완충용액에서 306 nm, 351 nm, 371 nm, 421 nm의 4가지의 등흡광점은 다른 산성 용액보다 약 3~5 nm 파장의 장파색 효과가 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각되며,^{5,6)} 카드뮴 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, 카드뮴 착물의 최적농도가 54.53 μM 케르세틴으로 관찰되었으며, 이때 328 nm에서 카드뮴(II)과 케르세틴이 1:1로 착물이 형성되는 것을 알 수 있었다. 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 완충용액은 $\lambda_1=485\text{ nm}$, $\lambda_2=376\text{ nm}$, $\lambda_3=316\text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. 348 nm 이후에 농도가 증가할수록 흡광도가 흡광감소 효과로 나타났으며, 352 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광증가 효과가 나타났다(Fig. 3).^{3,5,6,18)}

$1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ 초산(pH 4.5) 용액은 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 완충 용액보다 낮은 324 nm에서 케르세틴과 카드뮴(II)이 1:1로 착물이 형성되었으며, 카드뮴 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, 케르세틴과 카드뮴(II) 착물이 형성되는 최적농도는 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 완충 용액보다 낮은 53.15 μM 케르세틴의 최적농도로 관찰되었다. 카드뮴 착물은 303 nm, 347 nm, 370 nm, 420 nm의 4가지의 등흡광점이 관찰된 것은 이들 반응과정에서 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각되며,⁸⁾ $1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ 초산(pH 4.5) 용액은 $\lambda_1=480\text{ nm}$,

$\lambda_2=372\text{ nm}$, $\lambda_3=311\text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. $1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ 초산용액은 322, 367 nm 이후에 농도가 증가할수록 흡광도가 흡광증가 효과로 나타났으며, 438, 472 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광감소 효과가 관찰되었다. $1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ 염산(pH 4.0) 용액에서는 다른 산 용액에서 보다 낮은 301 nm, 347 nm, 369 nm, 418 nm의 4가지 단파장의 등흡광점이 관찰된 것은 이들 반응과정에서 나타난 중간단계의 활성착물이라 생각되며,^{5,6)} 카드뮴 착물을 형성하는 파장도 낮은 323 nm에서 케르세틴과 카드뮴(II)이 1:1로 착물이 형성되었다. 카드뮴 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, 산성 용액에서 가장 낮은 52.59 μM 케르세틴 최적농도로 관찰되었으며, 이러한 낮은 최적농도는 염산과 케르세틴의 H^+ 이온 해리작용의 경쟁반응에 기인되는 것으로 생각되며,³⁾ Cornard 등⁶⁾은 알루미늄(III)의 경우는 Cd(II)과는 다르게, 염산 용액(pH=2)에서 1:2의 안정한 Al(II)-케르세틴 착물로 형성된다고 보고하였다. $1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ 염산(pH 4.0) 용액에서 카드뮴 착물은 $\lambda_1=480\text{ nm}$, $\lambda_2=375\text{ nm}$, $\lambda_3=313\text{ nm}$ 이후에서 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. 302 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광도는 흡광증가 효과로 관찰되었으며, 419 nm 이후에서는 농도가 증가할수록 흡광감소 효과가 나타났다. $1.0 \times 10^{-6}\text{ M}$ 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액과 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액의 결과를 비교해보면, 등흡광점은 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액이 $1.0 \times 10^{-6}\text{ M}$ 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액보다 장파색 효과

Table I - Spectral parameters of quercetin and its cadmium complex in aqueous of solution at various pH

pH Solvent		0.0 (A)	0.2	0.4	0.6 (B)	0.8 (C)	1.0 (D)	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0
$1.0 \times 10^{-6}\text{ M}$ NaOH pH 8.0	A	0.91656	0.93495	0.95234	0.97052	0.98891	1.00780	0.99971	0.99167	0.98282	0.97499	0.96680
	λ (nm)	328	326	326	326	326	326	326	326	326	326	326
	C (μM)		50.00	51.95	52.94	53.95	54.98	54.54	54.10	53.62	53.19	52.74
$1.0 \times 10^{-2}\text{ M}$ NH_3 pH 10.6	A	0.91831	0.93597	0.95458	0.97212	0.98991	1.00788	0.99980	0.99171	0.98393	0.97564	0.96793
	λ (nm)	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328
	C (μM)		50.96	51.98	52.93	53.90	54.88	54.44	54.00	53.57	53.12	52.70
0.2 M NH_3 - 0.2 M NH_4Cl pH 8.0	A	0.92092	0.93814	0.95579	0.97298	0.99012	1.00793	0.99989	0.99207	0.98478	0.97640	0.96861
	λ (nm)	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328
	C (μM)		50.94	51.89	52.83	53.81	54.72	54.29	53.86	53.47	53.01	52.59
0.2 M NaOAc - 0.2 M CH_3COOH pH 4.0	A	0.92414	0.93999	0.95659	0.97321	0.99103	1.00791	0.99999	0.99209	0.98487	0.97672	0.96872
	λ (nm)	326	328	328	328	328	328	328	328	328	328	328
	C (μM)		50.86	51.76	52.66	53.62	54.53	54.10	53.68	53.29	52.85	52.41
$1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ CH_3COOH pH 4.5	A	0.93841	0.95030	0.96232	0.97400	0.98594	0.99761	0.99345	0.98894	0.98568	0.98137	0.97806
	λ (nm)	324	324	324	324	324	324	324	324	324	324	324
	C (μM)		50.63	51.27	51.90	52.53	53.15	52.93	52.69	52.52	52.29	51.22
$1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ HCl pH 4.0	A	0.94522	0.95511	0.96501	0.97459	0.98453	0.99413	0.99123	0.98838	0.98655	0.98348	0.98122
	λ (nm)	323	323	323	323	323	323	323	323	323	323	323
	C (μM)		50.52	51.05	51.55	52.08	52.59	52.43	52.28	52.19	52.02	51.90
A: Absorbance		λ : Wavelength										
R=[Cd]/[Quercetin];		0.0 (A), 0.2, 0.4, 0.6 (B), 0.8 (C), 1.0 (D), 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0.										

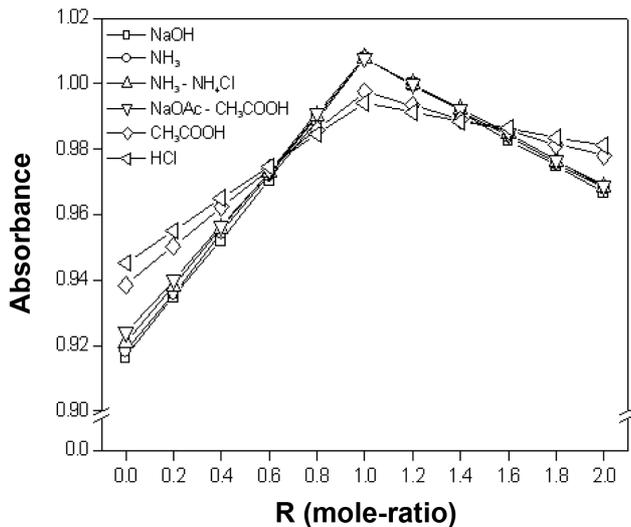


Fig. 4 – Mole-ratio plots at various pH for 1 : 1 complex of cadmium (II) and quercetin. 326 nm (\square : 1.0×10^{-6} M NaOH, pH 8.0), 328 nm (\circ : 1.0×10^{-2} M NH_3 , pH 10.6), 328 nm (\triangle : 0.2 M NH_3 - 0.2 M NH_4Cl , pH 8.0), 328 nm (∇ : 0.2 M NaOAc - 0.2 M CH_3COOH pH 4.0), 324 nm (\diamond : 1.0×10^{-4} M CH_3COOH pH 4.5), 323 nm (\triangleleft : 1.0×10^{-4} M HCl, pH 4.0).

가 측정되었다. 강산인 1.0×10^{-4} M 염산(pH 4.0)이 수산화 나트륨 용액보다 가장 낮은 흡광도가 나타난 것은 카드뮴(II)과 착물을 형성하는 두 자리 리간드를 갖는 catechol 그룹의 탈 수소화 작용이 감소되는 것으로 생각된다(Table I와 Fig. 8).³⁾ 케르세틴에 카드뮴(II)을 농도별로 첨가하면, 스펙트라가 변하는 것을 알 수 있었고, 이러한 스펙트라의 변화는 카드뮴(II)과 케르세틴 간의 안정한 착물 형성에 의한 것으로 판단된다. 케르세틴과 카드뮴(II)을 pH 용액별 스펙트라의 변화를 몰 비율법에 도기한 결과에 의하면, 모든 농도에서 카드뮴(II)과 케르세틴의 몰 비율이 1.0이 되면 흡광도의 변화가 최대가 되고, 몰 비율이 높거나 낮으면 흡광도가 흡광감소 효과가 관찰되었으며, 가장 안정된 분자구조의 착물을 형성하는 것으로 생각된다(Fig. 4).

이는 카드뮴 착물이 형성될때에 카드뮴(II)의 4d 원자궤도함수의 참여와 케르세틴의 B고리에 γ -pyrone고리를 통해서 A고리로 낮은 전하이동이 일어나며, 이때에 ligand-to-metal charge transfer로 인한 장파색 효과가 나타난다고 생각된다. 카드뮴 착물이 형성될때에 리간드로서 케르세틴이 전체적으로 평면구조를 이루어, catecholate 그룹에서 카드뮴(II)과 배위공유 결합을 이루어, 이때에 $\text{C}_3'\text{O}_3'$ 와 $\text{C}_4'\text{O}_4'$ 의 결합길이는 감소하는 반면, $\text{O}_3'\text{Cd}$ 와 $\text{O}_4'\text{Cd}$ 의 결합길이는 증가하리라 생각된다(Fig. 8).^{5,6)} 카드뮴(II) 착물형성의 최적농도는 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0)용액이 다른 알칼리 용액보다 낮은 최적농도에서 카드뮴(II)착물이 이루어졌다. 0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0)용액은 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0)

용액보다 낮은 326 nm에서 케르세틴과 카드뮴(II)이 1 : 1로 착물이 형성되었으며, 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액에서 카드뮴 착물의 최적농도($54.72 \mu\text{M}$)보다 약 $0.19 \mu\text{M}$ 농도보다 낮은 최적농도에서 관찰되었다. 산성 용액에서 카드뮴(II) 착물의 최적농도가 낮은 것은 케르세틴의 3',4'-dihydroxycatechol function에서 탈 수소화 작용이 억제되는 현상에 기인하는 것으로 생각된다(Fig. 8).^{3,5)}

Cd(II)-(+)-Catechin의 최적농도

케르세틴의 C고리에 4-카보닐그룹과 2번과 3번 탄소에 2중결합이 없으며, C고리와 B고리에 conjugation이 없는 (+)-카테킨의 카드뮴(II) 착물형성에 최적조건을 확립하기 위하여, 1.0×10^{-6} M 수산화 나트륨(pH 8.0)용액에서는 280 nm 이후에서 몰 비율이 증가할수록 흡광도는 흡광증가 효과가 관찰되었으며, 흡광도가 249 nm와 260 nm에서 두 가지의 등흡광점은 중간단계의 활성화 착물로 생각된다. 280 nm에서 카드뮴(II)과 (+)-카테킨이 1 : 1로 착물이 형성되는 것을 알 수 있었으며, 카드뮴 착물의 농도와 몰 흡광계수로 이용하여, 이때의 최적농도가 $55.31 \mu\text{M}$ (+)-카테킨으로 나타났으며, $\lambda_1=252 \text{ nm}$ 이후에서 나타난 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. 1.0×10^{-2} M 암모니아(pH 10.6) 용액에서는 280 nm에서 (+)-카테킨과 카드뮴(II)이 1 : 1로 착물을 형성하였으며, 이때의 최적농도는 $55.29 \mu\text{M}$ (+)-카테킨으로 나타났다. 250 nm와 261 nm에서 두 가지의 등흡광점은 중간단계의 활성화 착물로 생각되며, 263 nm 이후에서 몰 비율이 증가함에 따라 흡광도는 흡광증가 효과로 나타났으며, $\lambda_1=253 \text{ nm}$ 이후에서 나타난 새로운 흡수

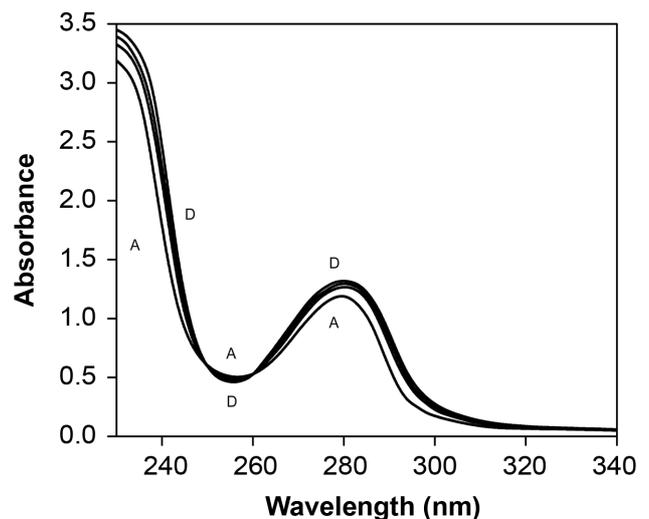


Fig. 5 – Absorption spectra of $50 \mu\text{M}$ (+)-catechin. a) 0.2 M NH_3 - 0.2 M NH_4Cl (pH 8.0) in the presence of various concentrations of cadmium (II) at $\lambda=281 \text{ nm}$. b) $R=[\text{cadmium}]/[\text{catechin}]$; $R=0.0$ (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액에서는 252 nm 이후에서 몰 비율이 증가함에 따라, 흡광도는 흡광증가 효과로 나타났으며, 250 nm와 263 nm에서 2가지의 등흡광점은 약 1~3 nm 파장의 장파장 이동에서 나타난 중간단계의 활성화 착물이라 생각된다. 흡광도가 281 nm에서 카드뮴(II)과 (+)-카테킨이 착물을 형성하는 것은 몰 비율이 1.0에서 1:1 착물이 형성됨을 알 수 있었으며, 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여, 이때의 55.27 μM (+)-카테킨로 가장 높은 흡광도(A=1.32217)를 관찰할 수 있었으며, λ₁=250 nm 이후에서 나타난 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다(Fig. 5). 알카리 용액에서 카드뮴(II)-(+)-카테킨 착물(1:1)의 형성농도는 암모니아 완충 용액(pH 8.0)에서 가장 낮은 최적농도가 관찰되었으나, 이때의 최적파장은 거의 비슷한 측정치(280 nm)로 나타났으며, 흡광감소 효과는 관찰되지 않았다.

0.2 M 초산 나트륨 - 0.2 M 초산(pH 4.0) 완충 용액에서는 280 nm에서 (+)-카테킨과 카드뮴(II)이 1:1로 착물이 형성되는 것을 알 수 있었으며, 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여 이때의 최적농도는 54.93 μM (+)-카테킨으로 측정되었다. 249 nm와 261 nm에서 2가지의 등흡광점은 다른 산성 용액보다 약 2~3 nm 파장의 장파색 효과가 나타난 중간단계의 활성화 착물이라 생각되며, 250 nm 이후에서 몰 비율이 증가함에 따라 흡광도는 흡광증가 효과로 나타났으며, λ₁=251 nm에서 나타난 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다(Fig. 6).

1.0×10⁻⁴M 초산(pH 4.5) 용액에서는 (+)-카테킨과 카드뮴(II)

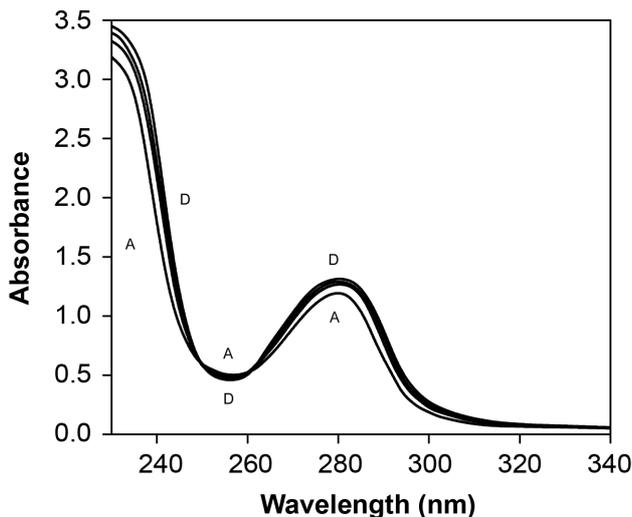


Fig. 6 - Absorption spectra of 50 μM (+)-catechin. a) 0.2 M NaOAc - 0.2 M CH₃COOH (pH 4.0) in the presence of various concentrations of cadmium (II) at λ=280 nm. b) R=[cadmium]/[catechin]; R=0.0 (A), 0.6 (B), 0.8 (C), and 1.0 (D).

이 1:1로 278 nm에서 착물이 형성되는 것을 알 수 있었고, 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여 이때의 농도가 54.03 μM (+)-카테킨인 것을 알 수 있었다. 248 nm와 261 nm에서 두 가지의 등흡광점은 중간단계의 활성화 착물로 생각된다. 262 nm 이후에서 농도가 증가할수록 흡광도는 흡광증가 효과가 나타나는 것을 알 수 있었으며, λ₁=248 nm 이후에서 나타난 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. 1.0×10⁻⁴M 염산(pH 4.0) 용액에서는 다른 산성 용액보다 단파장인 247 nm와 258 nm에서 두 가지의 등흡광점은 중간단계의 활성화 착물로 생각된다. 277 nm에서 (+)-카테킨과 카드뮴(II)이 1:1로 착물을 형성하였으며, 착물의 농도와 몰 흡광계수를 이용하여 이때의 농도가 53.38 μM (+)-카테킨임을 알 수 있었고, λ₁=247 nm 이후에서 나타난 새로운 흡수 스펙트럼은 카드뮴 착물에 기인된 것으로 사료된다. 알카리 용액의 경우와는 달리 산 용액에서는 카드뮴(II)-(+)-카테킨 착물(1:1)의 형성농도는 1.0×10⁻⁴M 염산(pH 4.0) 용액에서 가장 낮은 최적농도가 관찰되었으며, 이때의 최적파장은 가장 낮은 측정치(277 nm)로 나타났지만, 흡광감소 효과는 관찰되지 않았다. 염기성 용액인 1.0×10⁻⁶M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액과 1.0×10⁻²M 암모니아(pH 10.6) 용액으로 측정된 결과를 비교해보면, 1.0×10⁻⁶M 수산화 나트륨(pH 8.0) 용액의 등흡광점이 1.0×10⁻²M 암모니아(pH 10.6) 용액의 등흡광점보다 단파장 이동현상이 관찰되었으며, 암모니아 완충 용액의 등흡광점은 약간 장파장쪽에서 중간단계의 활성화 착물이 나타났으며, 모든 용액에서 흡광증가 효과는 관찰되지 않았다. 산성용액인 경우, 강산인 1.0×10⁻⁴M 염산(pH 4.0) 용액에서 등흡광점은 가장 낮은 단파장쪽에서 중간단계의 활성화 착물이 관찰되었으며, 가장 낮은 흡광도로 나타나는 것은 카드뮴(II)과 착물을 형성할 수 있는 (+)-카테킨의 B고리에 위치한 두 자리 리간드를 갖는 3',4'-dihydroxy그룹의 탈 수소화 작용을 억제하는 것으로 생각된다(Table II).^{3,5,6,18)}

(+)-카테킨에 카드뮴(II)을 농도별로 첨가하게 하면, 스펙트럼이 변하는 것을 알 수 있었으며, 이러한 스펙트럼의 변화는 카드뮴(II)과 (+)-카테킨간의 안정한 착물 형성에 기인한 것으로 생각된다. Fig. 7은 pH 변화에 따라 (+)-카테킨과 카드뮴(II)이 1:1로 착물이 형성되는 흡광점에서의 스펙트럼 변화를 몰 비율법으로 도시한 것이며, 카드뮴(II)과 (+)-카테킨의 몰 비율이 1.0이 되면 흡광도의 변화가 최대가 되며, 몰 비율이 높거나 낮으면 흡광도가 낮게 관찰되었다. (+)-카테킨과 카드뮴(II)간의 착물형성되는 1 단계로 산-염기 반응, 2 단계는 착물반응을 나타냈으며, 카드뮴(II)과 (+)-카테킨의 B고리에 위치한 두 자리 리간드를 갖는 3',4'-dihydroxy이온과 결합하여, 안정한 카드뮴(II)착화합물을 형성하여, 몰 비율이 1.0에서 가장 안정된 분자구조의 착물을 형성하는 것으로 생각된다(Fig. 8).^{3,19-21)} 카드뮴(II)-케르세틴의 착물이 형성처럼, 카드뮴(II)-(+)-카테킨의 착물형성시에도 카드뮴

착물의 형성능력은 카드뮴(II)-케르세틴의 착물의 형성능력보다 낮은 안정도 상수가 측정되리라 사료된다.²²⁾ 카드뮴(II)-케르세틴의 착물이 형성될때에 네 가지의 등흡광점은 전체적으로 케르세틴이 평면구조와 B고리와 γ -pyrone고리의 conjugation를 통해서 A고리로 낮은 전하이동에 기인하며, 카드뮴(II)-(+)카테킨 착물의 두 가지의 등흡광점은 (+)-카테킨이 평면구조를 이루지 않으며, B고리와 A고리를 잇는 중간단계의 C고리의 포화에 기인된다고 생각된다. 앞으로 여러가지의 pH용액에서 중금속과 프라보노이드 화합물의 화학량론적인 관계와 금속착물에 대한 분광학적인 분자구조와 메카니즘의 규명, 금속착물의 분자구조에 따른 활성관계는 연구할 가치가 있다고 사료된다.²³⁻²⁵⁾

결 론

여성초에 함유되어 있는 케르세틴과 (+)-카테킨을 자외선-가시광선 분광 광도계를 이용하여, 카드뮴의 착물형성에 대하여, 다음과 같은 결과를 얻었다. 케르세틴은 0.2 M 암모니아 - 0.2 M 염화 암모늄(pH 8.0) 용액으로 328 nm에서 카드뮴(II)-케르세틴의 1 : 1 착물 형성의 농도는 54.72 μ M 케르세틴으로 가장 높은 흡광도(A=1.00793)로 관찰되었다. 그렇지만 (+)-카테킨은 280 nm에서 54.72 μ M 케르세틴농도보다 높은 55.27 μ M (+)-카테킨에서 카드뮴(II)-(+)카테킨 착물(1 : 1)이 형성됨을 알 수 있었다. 이러한 연구결과는 카드뮴(II)-케르세틴 착물형성의 최적농도가 카드뮴(II)-(+)카테킨 착물형성의 농도보다 낮은 것은 케르세틴의 C고리와 B고리에 conjugation에 기인하는 것으로 사료되며, 카드뮴(II) 착물형성할 때에 리간드의 페놀구조의 위치와 수에 따라 착물의 안정도 상수가 차이가 있으며, 용매의 조건에 따라 화학량론적 관계와 안정도 상수에 영향을 미치리라 사료된다. 앞으로 카드뮴(II) 독성이 여러 가지의 정상세포에 유발되었을 때, 케르세틴과 (+)-카테킨같은 프라보노이드 화합물을 처리하여 세포독성을 경감시킬 수 있는 메카니즘 등 다양한 연구는 필요하리라 생각된다.

참고문헌

- Jo, G. Y., Choi, H. J., Bae, D. K., Son, J. H., Park, M. M., Woo, H. S., An, B. J., Bae, M. J. and Choi, C. : Removal effect of cadmium by polyphenol compound extracted from persimmon leaves (*Diospyros kaki* folium). *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **43**, 213 (2000).
- Choi, S. I., Lee, J. H. and Lee, S. R. : Effect of green tea beverage for the removal of cadmium and lead by animal experiments. *Kor. J. Food Soc. Biotechnol.* **26**, 745 (1994).
- Lee, J. H., Shin, S. W. and Baek, S. H. : Optimum concentration of the Cd(II)-protocatechuic acid complex. *J. Phram. Soc. Korea* **52**, 426 (2008).
- Souza, R. F. V. D. and Giovani, W. F. D. : Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. *Redox Report* **9**, 97 (2004).
- Cornard, J. P., Dangleterre, L. and Lapouge, C. : Computational and spectroscopic characterization of the molecular and electronic structure of the Pb(II)-quercetin complex. *J. Phys. Chem. A* **109**, 10044 (2005).
- Cornard, J. P. and Merlin, J. C. : Spectroscopic and structural study of complexes of quercetin with Al(III). *J. Inorg. Biochem.* **92**, 19 (2002).
- Le Nest, G., Caille, O., Woudstra, M., Roche, S., Burlat, B., Guerlesquin, F. and Lexa, D. : Zn-polyphenol chelation: complexes with quercetin, (+)-catechin, and derivatives: I optical and NMR studies. *Inorg. Chim. Acta* **357**, 775 (2004).
- Le Nest, G., Caille, O., Woudstra, M., Roche, S., Burlat, B., Belle, V., Guerlesquin, B. and Lexa, D. : Zn-polyphenol chelation: complexes with quercetin, (+)-catechin, and derivatives: II Electrochemical and EPR studies. *Inorg. Chim. Acta* **357**, 2027 (2004).
- Park, S. N. and Jin, D. C. : Antimicrobial effect of (-)-catechin and (-)-epicatechin on *Streptococcus mutans*. *Oral Biol. Res.* **30**, 17 (2006).
- Hur, J. M., Kim, I. H. and Park, J. C. : Hepatoprotective effect of catechin isolated from the root of *Rosa rugosa* Thunb. *Kor. J. Medicinal Crop. Sci.* **15**, 21 (2007).
- Lee, E. H., Lee, J. K., Hong, J. T., Jung, K. M., Kim, Y. K., Lee, S. H., Chung, S. Y. and Lee, Y. W. : Protective effect of green tea extract, catechin on UVB-induced skin damage. *J. Fd. Hyg. Safety* **16**, 117 (2001).
- 이민준, 권대중, 박옥진 : 국내 시판되는 녹차, 우롱차 및 홍차의 카테킨 함량과 항산화능 비교. *한국식생활문화학회지* **22**, 449 (2007).
- Morel, I., Lescoat, G., Cogrel, P., Sergent, O., Padeloup, N., Brissot, P., Cillard, P. and Cillard, J. : Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem. Pharmacol.* **45**, 13 (1993).
- Dean, J. A. : *Lange's Handbook of Chemistry*. McGraw-Hill Book Company, p. 90 (1985).
- Oxtoby, D. W. and Freeman, W. A. : *Chemistry: Science of Change*, 3rd eds. Saunders Golden Sunburst Series, p. 317 (1998).
- Skoog, D. A., West, D. and Holler, F. J. : *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 6th. ed, Saunders College Publishing, p. 22 (1992).
- Bullatov, M. I. and Kalinkin, I. P. K. : *Practical Manual of Photometric Analysis*, Chemistry, 5th ed., Leningrad (1986).
- Lee, J. H. and Baek, S. H. : Optimum concentration of the Cd

- (II)-quercetin complexation reaction. *J. Phram. Soc. Korea* **53**(2), (2009).
- 19) Choi, J. H. and Rhee, S. J. : Effects of green tea catechin on cadmium accumulation in chronic cadmium poisoned rats. *Kor. Nutr. Soc.* **34**, 384 (2001).
- 20) 우원식 : 천연물화학 연구법. 서울대학교 출판부, p. 30 (2001).
- 21) Geissman, T. A. : *The Chemistry of Flavono id Compounds*, Pergamon Press, Oxford (1962).
- 22) Esparza, I., Salinas, I., Santamaria, C., Garcia-Mina, J. M. and Fernandez, J. M. : Electrochemical and theoretical complexation studies for Zn and Cu with individual polyphenols. *Anal. Chim. Acta* **543**, 267 (2005).
- 23) Bernal, M., Garcia-Vázquez, J. A., Romero, J., Gomez, C., Duran, M. L., Sousa, A., Sousa-Pedrares, A., Rose, D. L., Maresca, K. P. and Zubieta, J. : Electrochemical synthesis of cobalt, nickel, copper, zinc and cadmium complex with N[(2-hydroxy phenyl)methylidene]-N'-tosylbenzene-1,2-diamine. The crystal structures of {(1,10-phenanthroline)[N-(2-oxophenyl)-methylidene]-N-tosylbenzene-1,2-diaminato}nickel(II) and{(1,10-phenanthroline)[N-(2-oxophenyl)-methylidene]-N-tosylbenzene-1,2-diaminato}copper(II). *Inorg. Chem. Acta* **295**, 39 (1999).
- 24) Bodini, M. E., Copia, G., Tapia, R., Leighton, F. and Herrera, L. : Iron complexes of quercetin in aprotic medium. Redox chemistry and interaction with superoxide anion radical. *Polyhedron* **18**, 2233 (1999).
- 25) Mira, L., Fernandez, M. T., Santos, R., Rurocha, R., Flore-Ncio, M. H. and Jennings, K. R. : Interactions of flavonoids with iron and copper ions: A mechanism for their antioxidant activity. *Free Rad. Res.* **36**, 1199 (2002).